

IMMUNOMODULATORY ACTIVITY TEST FROM ETHANOL EXTRACT OF PURPLE BUTTON HERBS (*Borreria laevis* Lamk.) ON MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS IN MALE MICE (*Mus musculus*)

Mus Ifaya*, Wa Ode Ida Fitriah, Juliana Baco, Bai Athur Ridwan, Wa Ode Yuliastri, Firhani Anggriani Syafrie, Nirwana

Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Mandala Waluya, Jl. Jend. AH. Nasution, Kambu, Kec. Kambu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara 93561, Indonesia.

*Corresponding author: Mus Ifaya (mus.ifaya@umw.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 16 December 2024

Revised: 25 January 2025

Accepted: 05 February 2025

Abstract

The immune system is very important for protecting it from harmful pathogens and foreign substances. The aim of this study is to evaluate the immunomodulatory effects of the purple button herb (*Borreria laevis* Lamk) on the phagocytic function of mouse macrophages (*Mus musculus*). The immunomodulator test was conducted by measuring the phagocytic activity of macrophages. Extraction was performed using the maceration method with 96% ethanol as the solvent. After seven days of treatment, male mice were inoculated with *Staphylococcus aureus* bacteria through intraperitoneal injection. Three groups were treated with purple button herb extract at doses of 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW, and 300 mg/kgBW. Next, the peritoneal fluid was collected to measure the macrophage phagocytosis activity. The results showed that the extract of the purple button herb significantly increased the phagocytic activity of macrophages by 29.38% in the 100 mg/kgBW dosage group, 34.44% in the 200 mg/kgBW dosage group, and 45.08% in the 300 mg/kgBW dosage group, with a significant One-Way ANOVA test value of p-value < 0.05. Therefore, the purple button herb has the potential to be developed as an immunomodulator.

Keywords: *borreria laevis lamk*, immunomodulator, macrophage, mice phagocytosis

UJI AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK ETANOL HERBA KANCING UNGU (*Borreria laevis* Lamk.) TERHADAP FAGOSITOSIS MAKROFAG PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN

Abstrak

Sistem kekebalan tubuh sangat penting untuk melindunginya dari patogen dan zat asing yang berbahaya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek imunomodulator herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk) pada fungsi fagositosis makrofag mencit (*Mus musculus*). Uji imunomodulator dilakukan dengan mengukur aktivitas fagositosis makrofag. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Setelah tujuh hari perawatan, mencit jantan diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* melalui injeksi intraperitoneal. Tiga kelompok diberikan perlakuan dengan

ekstrak herba kancing ungu 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Selanjutnya, cairan peritoneum diambil untuk mengukur aktivitas fagositosis makrofag. Hasilnya, ekstrak herba kancing ungu secara signifikan meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag sebesar 29,38% kelompok dosis 100 mg/kgBB, 34,44% kelompok dosis 200 mg/kgBB dan kelompok dosis 300 mg/kgBB sebesar 45,08% dengan nilai uji One-Way ANOVA signifikan p-value < 0,05. Oleh karena itu tanaman herbal kancing ungu berpotensi untuk dikembangkan sebagai imunomodulator.

Kata kunci: *borreria laevis* lamk, imunomodulator, fagositosis, makrofag, mencit

Pendahuluan

Penyakit Infeksi masih merupakan penyakit utama di beberapa negara berkembang termasuk Indonesia.¹ Menurut WHO, jumlah kematian akibat penyakit infeksi diperkirakan akan mencapai 16,5 juta pada tahun 2030.² Salah satu faktor penyebab tingginya angka kematian ini adalah infeksi yang diakibatkan oleh bakteri, virus, protozoa, parasit, dan iritan hidup dilingkungan kita. Setelah masuk ke dalam tubuh zat-zat ini dapat menyebabkan berbagai penyakit atau kerusakan jaringan. Sistem kekebalan tubuh sangat penting untuk menjaga homeostasis dan melawan infeksi patogen. Sistem kekebalan tubuh memberikan perlindungan menyeluruh dari patogen yang menyerang patogen ini adalah bahan yang tidak diinginkan yang perlu dihilangkan.³ Tubuh secara konsisten mempertahankan diri ketika ada zat asing yang mencoba masuk, suatu proses yang dikenal sebagai imunitas.⁴

Sistem kekebalan tubuh terdiri dari berbagai jaringan dan sel yang membentuk respons imun. Sistem ini melakukan banyak hal, seperti melindungi tubuh terhadap benda asing, membersihkan sel-sel mati, dan memperbaiki jaringan yang rusak.⁵ Imunomodulasi mengacu pada zat atau obat yang digunakan untuk mengembalikan keseimbangan sistem kekebalan tubuh yang terganggu dengan menstimulasi dan meningkatkan fungsi kekebalan tubuh. Penyembuhan infeksi lebih cepat bila fungsi sistem kekebalan tubuh ditingkatkan. Beberapa bahan nabati dapat membantu beberapa bagian sistem kekebalan berfungsi lebih baik, seperti sel NK, makrofag, atau proliferasi sel T dan sel B penghasil antibodi.⁶ Imunomodulator adalah suatu senyawa memiliki kemampuan untuk mengubah kualitas dan intensitas dari respons imun. Imunomodulator dapat meningkatkan sistem imun dengan menstimulasinya (*immunostimulant*), memperbaiki fungsi sistem imun (*immunorestitution*), atau menekan atau menormalkan reaksi imun yang tidak normal⁷ sehingga menjaga sistem imun tetap kuat sangat diperlukan untuk mencegah infeksi. Ketika infeksi masuk ke dalam tubuh, makrofag, yang merupakan bagian dari kekebalan tubuh alami, berperan dalam fagositosis antigen tersebut. Salah satu mekanisme kerja imunomodulator adalah dengan meningkatkan aktivitas makrofag untuk menjaga agar sistem imun tetap optimal.⁸

Tubuh manusia tidak bisa terhindar dari paparan patogen yang ada di lingkungan sekitarnya. Beberapa mikroba dapat menyebabkan infeksi pada tubuh manusia.⁹ Paparan terhadap bakteri, virus, parasit, radiasi, dan polusi selalu mengancam kesehatan tubuh. *Staphylococcus aureus* sering digunakan dalam penelitian karena merupakan bakteri gram positif yang mudah dikenali dengan pewarnaan giemsa, yang memudahkan identifikasi melalui mikroskop. Bakteri ini tidak memiliki protein A yang sifatnya antifagositik, sehingga tidak dapat menghindari fagositosis oleh makrofag peritoneum.¹⁰

Borreria laevis (Lamk.) adalah herba yang dijadikan ramuan yang ditemukan di daerah tropis asia dan di meksiko. Rebusan daun digunakan untuk sakit ginjal dan nyeri karena menstruasi. Studi telah mengkonfirmasi bahwa ekstrak dari spesies *Borreria* dan

spermacoce memiliki beragam aktivitas biologis, termasuk anti-inflamasi, antitumor, antimikroba, larvasida, antioksidan, gastrointestinal, anti maag, dan hepatoprotektif.¹¹ Tanaman yang segenus dengan *Borreria laevis* Lamk. adalah *Borreria articularis* dari famili *Rubiaceae* yang mempunyai aktivitas antibakteri, antifungi dan mengandung alkaloid, glikosida, sterol, D-manitol dan asam ursolat. Spesies *Borreria* dan *Spermacoce* juga dilaporkan mengandung alkaloid, iridoid, flavonoid, dan terpenoid.¹²

Hasil skrining fitokimia ditemukan bahwa ekstrak etanol herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.) mengandung senyawa flavonoid, saponin, fenolik, tannin, dan steroid. Pada penentuan kadar total herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.) diperoleh kadar fenolik total sebesar 898,9 mgGAE/g dan kadar flavonoid total sebesar 28,27 mgQE/g, saporin total sebesar 6,853% dan tannin total sebesar 0,194 mg.TAE/g.¹³ Herba kancing ungu mengandung flavonoid yang bekerja dengan limfokin (Interferon gamma) yang dibuat oleh sel T, menstimulasi sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis makrofag.¹⁴ Makrofag adalah sel fagosit yang aktivitasnya dapat ditingkatkan dengan penggunaan senyawa imunomodulator. Fagositosis oleh makrofag sering digunakan sebagai parameter dalam penelitian imunomodulator, karena makrofag memiliki peran yang sangat penting sebagai sel fagosit dengan kemampuan fagositosis yang jauh lebih kuat dibandingkan sel fagosit lainnya.¹⁵

Berdasarkan uraian diatas sehingga herba kancing ungu bisa menjadi obat alternatif karena ketersediaan tanaman ini melimpah sehingga mudah didapat, murah, dan mudah diolah.

Metode

Alat

Alat yang digunakan antara lain timbangan digital, wadah maserasi, *rotary vacuum evaporator* (Buchi r-300), cawan petri, tabung reaksi, oven, autoklaf, batang pengaduk, seperangkat alat spektrofotometri UV-Vis 1280 (Shimadzu), spuit injeksi (One mad), spoit oral, pinset, pisau bedah, seperangkat alat mikroskop (Olympus), objek glass dan deglass.

Bahan

Adapun bahan yang digunakan adalah serbuk herba kancing ungu, etanol 96%, aquadest, bakteri *Staphylococcus aureus*, Stimuno, BaCl₂ 1%, H₂SO₄ 1%, NaCl 0,9%, larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), pewarna giemsa 4%, minyak imersi, methanol dan hewan uji mencit.

Prosedur

Pembuatan ekstrak

Serbuk herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.) ditimbang sebanyak 2000g lalu dimasukkan kedalam wadah maserasi lalu direndam menggunakan etanol 96%, diaduk lalu ditutup rapat dan dibiarkan selama 1x 24 jam. Setelah 24 jam diaduk lalu disaring dan diambil filtratnya. Selanjutnya sampel diremaserasi dengan menggunakan pelarut baru selama 3 hari berturut-turut. Filtrat herba kancing ungu kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 78°C. hingga diperoleh ekstrak pekat.

Aktivitas imunomodulator

Aklimatisasi Hewan Uji

Sebelum digunakan sebagai objek penelitian, hewan percobaan harus diadaptasi atau diklimatisasi ke lingkungan selama sekitar 7 hari untuk memantau kondisi kesehatannya. Hewan percobaan hanya diberikan makan satu kali dalam sehari.

Persiapan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ditanam pada media NA miring di suspensikan ke dalam larutan Natrium klorida 0,9% lalu jumlah bakteri ditentukan melalui spektrofotometri ($\lambda = 580$ nm, transmisi 25%) dan diperoleh jumlah bakteri setara dengan 1,5 kali 10^8 sel/ml.

Penyiapan Sampel Uji

Pengujian efek imunomodulator dilakukan dengan menggunakan prosedur berikut: Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 hewan uji. Hewan uji pengobatan diberikan secara oral sekali sehari selama 7 hari sesuai volume yang ditentukan. Kelompok I mendapat Suspensi Na-CMC 0,5% Kelompok II mendapat Stimuno 0,13mg/30 g BB, kelompok III-V mendapat ekstrak etanol pada 100 mg/kg BB, 200mg/kgBB dan 300mg/kgBB. Kelompok III mendapat enau setiap hari selama 7 hari berturut-turut.

Pada hari ke-8, masing-masing tikus terinfeksi 0,5 mL suspensi *Staphylococcus aureus* melalui injeksi intraperitoneal dan dibiarkan istirahat selama satu jam sebelum dibedah, mencit dibius dengan eter, dan perutnya diperiksa dengan pinset steril dan gunting bedah. Dengan menggunakan spuit, cairan peritoneum diambil dan dipulas pada kaca objek. Setelah difiksasi dengan metanol selama lima menit, diwarnai selama dua puluh menit dengan pewarna Giemsa 4%. Setelah dibilas dengan menggunakan air mengalir dan sediaan mengering, pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan minyak imersi pada perbesaran 10 kali lipat hingga 100 kali lipat untuk mengukur aktivitas fagositosis makrofag.¹⁵

Penetapan Nilai Aktivitas Fagositosis

Persentase aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit adalah ukuran aktivitas imunomodulator. Persentase ini adalah persentase makrofag aktif sel yang terlibat dalam fagositosis dari 100 sel makrofag.¹⁶ Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan One-Way ANOVA.

$$\% \text{ Nilai aktivitas fagositosis} = \frac{\text{jumlah sel makrofag aktif}}{\text{jumlah sel makrofag teramati}} \times 100\%$$

Hasil Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi sampel herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.) dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Universitas Mandala Waluya dengan nomor dokumen 042/09.3.01/VII/2023). Hasil determinasi menyatakan bahwa spesies sampel yang digunakan adalah herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.).

Hasil Ekstraksi Herba Kancing Ungu (*Borreria laevis* Lamk.)

Hasil ekstraksi herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan persen rendemennya dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini :

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Herba Kancing Ungu (*Borreria laevis* Lamk.)

Berat simplisia awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Rendemen (%)
2.000	300	15

Hasil ekstraksi herba kancing ungu dengan metode maserasi dari 2.000 gram serbuk yang diekstraksi diperoleh 300 gram ekstrak kental dengan rendemen 15%.

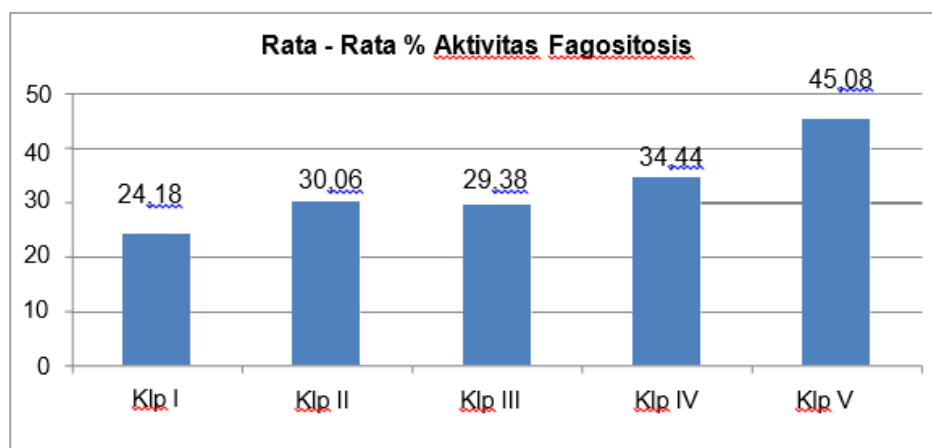
Hasil Uji Fagositosis Ekstrak Etanol Herba Kancing Ungu (*Borreria laevis* Lamk.)

Hasil perhitungan jumlah makrofag naif dan aktif dari ekstrak etanol herba kancing ungu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Persen Aktivitas Makrofag Ekstrak Etanol Herba Kancing Ungu (*Borreria laevis* Lamk.)

No.	Perlakuan	Mencit (n)	Rerata±SD	
			Makrofag Naif (%)	Makrofag Aktif (%)
1	Kelompok I	5	75,82±8,46	24,18±8,46
2	Kelompok II	5	69,94±8,93	30,06±12,87
3	Kelompok III	5	70,62±13,14	29,38±13,14
4	Kelompok IV	5	70,96±6,90	34,44±8,83
5	Kelompok V	5	54,92±10,63	45,08±10,63

Parameter aktivitas fagositosis ditentukan berdasarkan jumlah sel fagosit yang aktif melakukan proses fagositosis di antara 100 sel fagosit, dan hasilnya dinyatakan dalam persentase (%).¹⁷ Peningkatan aktivitas fagositosis dapat mempengaruhi peningkatan respons imun adaptif, yang pada gilirannya dapat merangsang atau memperkuat daya tahan tubuh.¹⁸ Rata-rata persen aktivitas fagositosis makrofag pada mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. Data rata-rata persen aktivitas fagositosis

Hasil pengukuran zona hambat dianalisis menggunakan uji Shapiro-Wilk dalam menentukan normalitas data, Hal ini dibuktikan nilai signifikansi pada setiap konsentrasi yaitu pada kontrol positif nilai signifikansinya ($0,195 > 0,05$), kontrol negatif nilai signifikansinya ($0,739 > 0,05$), ekstrak dosis 100 mg nilai signifikansinya ($0,848 > 0,05$),

ekstrak dosis 200 mg nilai signifikansinya ($0,539 > 0,05$), dan ekstrak dosis 300 mg nilai signifikansinya ($0,550 > 0,05$), sehingga terbukti bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dimana nilai signifikansinya yaitu ($0,854 > 0,05$), sehingga terbukti bahwa data homogen dan data dapat dianalisis secara uji parametrik (ANOVA). Diperoleh nilai signifikansi $p < 0,05$, atau 0,000, yang menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan dari masing-masing konsentrasi. Nilai p yang lebih besar dari 0,05 menunjukkan bahwa ada perbedaan atau hampir sama di antara kedua konsentrasi, dan nilai p yang lebih rendah menunjukkan bahwa ada perbedaan di antara kedua konsentrasi.

Pembahasan

Herba kancing ungu diperoleh dari Desa Pinanggo Jaya, Kecamatan Lambandia, Kabupaten Kolaka Timur, Provinsi Sulawesi Tenggara. Dalam penelitian ini, ekstraksi sampel herba kancing ungu dilakukan dengan metode maserasi karena metode ini memiliki keuntungan yaitu tidak menyebabkan penguraian senyawa bahan alam karena tidak melibatkan pemanasan, sehingga lebih sering dipilih. Prosedurnya pun sederhana dan alat yang digunakan mudah didapatkan.¹⁹ Pelarut etanol 96% digunakan karena memiliki kemampuan dalam melarutkan senyawa dalam rentang polaritas yang luas, dimulai dari senyawa polar hingga non-polar, serta dapat menarik senyawa dari simplisia dengan baik, diharapkan dapat mengekstraksi senyawa yang berpotensi secara maksimal.²⁰

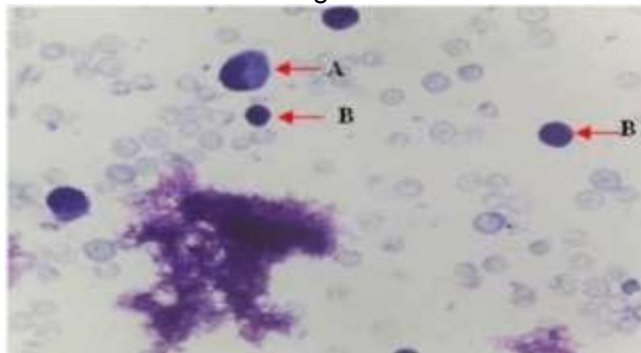
Selama proses ekstraksi, ekstrak herba kancing ungu (*Borreria laevis* Lamk.) dimasukkan ke dalam wadah maserasi tertutup dan gelap untuk menghindari oksidasi yang dapat mengganggu proses ekstraksi, kemudian direndam dengan etanol 96% untuk mengekstraksi metabolit berkhasiat secara maksimal. Semakin tinggi konsentrasi pelarut, semakin banyak metabolit yang terlarut dalam pelarut. Setelah itu, ampas maserasi kembali dimaserasi dua kali dengan cara yang sama untuk memastikan bahwa seluruh metabolit yang dibutuhkan sudah terlarut. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan rotary evaporator sampai mendapatkan ekstrak kental, yang kemudian ditimbang dan dihitung nilai rendemennya. Rendemen herba kancing ungu yang diperoleh adalah 15% dari berat simplisia awal 2000 gram, yang memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu rendemen minimal 7,2% untuk simplisia seberat 1000 gram.²¹

Staphylococcus aureus digunakan sebagai model infeksi dalam penelitian ini. Limfosit T mengeluarkan limfokin, yang menarik makrofag di daerah yang terkena infeksi. Untuk melawan infeksi, makrofag yang teraktivasi melepaskan berbagai zat, seperti komplemen, sitokin, lisozim, elastase, kolagenase, dan enzim. *Staphylococcus aureus* dipilih karena sifatnya sebagai bakteri gram positif, yang dapat dengan mudah mengikat noda Giemsa pada mikroskop. Selain itu, *Staphylococcus aureus* tidak memiliki protein A, yang merupakan protein antiphagocytic. Ini memastikan bahwa macrophages dapat melakukan phagocytosis dengan baik.

Variasi dosis dalam penelitian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya mengenai potensi imunomodulator fagositosis makrofag. Tiga tingkatan dosis ekstrak etanol herba kancing ungu adalah 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Na-CMC (0,5%) digunakan sebagai kontrol negatif. Sementara itu, Stimuno® (0,013 mg/kgBB) berperan sebagai kontrol positif. Stimuno® dipilih sebagai kontrol positif karena mengandung ekstrak meniran, yang diketahui memiliki aktivitas imunomodulator yang dapat membantu tubuh mengoptimalkan sistem imun untuk meningkatkan pertahanan tubuh.²²

Perubahan bentuk dan ukuran makrofag, bersama dengan penjurulan pseudopodia yang sangat beragam, menunjukkan peningkatan aktivitas makrofag.

Membran fagosom menjadi lebih berliku-liku, jumlah lisosom meningkat, aparatus golgi menjadi lebih besar, dan RE kasar berkembang.



Gambar 2. Makrofag aktif (A) dan makrofag tidak aktif (B)

Berdasarkan pengamatan pada mikroskop seperti pada Gambar. 2 makrofag yang aktif menunjukkan peningkatan ukuran dan perubahan bentuk yang bervariasi, dengan warna sel yang lebih gelap. Fagosom menunjukkan membran yang lebih berliku, jumlah lisosom meningkat, aparatus golgi membesar, dan retikulum endoplasma kasar berkembang. Sementara itu, makrofag naif memiliki ukuran dan bentuk yang lebih kecil, serta warna yang lebih terang dibandingkan makrofag yang aktif.²³

Pengujian dilakukan dengan menghitung aktivitas fagositosis sel makrofag peritoneum hewan uji. Nilai *Specific Phagocytosis Activity* diukur dengan persentase sel makrofag yang aktif melakukan fagositosis di antara 100 sel makrofag.²⁴ Data yang diperoleh kemudian dihitung dan disajikan dalam bentuk persentase, yang dapat dilihat pada Tabel 2. Dari data tersebut, terlihat bahwa aktivitas fagositosis makrofag semakin meningkat seiring dengan peningkatan dosis sediaan.

Analisis statistik menggunakan uji LSD menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ini secara efektif meningkatkan respon kekebalan tubuh dengan meningkatkan aktivitas makrofag. Analisis tambahan menggunakan Tukey Uji HSD memastikan semua dosis ekstrak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) yang menandakan adanya perbedaan signifikan antara masing-masing konsentrasi.²⁵ Selanjutnya memvalidasi sifat imunomodulator ekstrak. Temuan penelitian menunjukkan bahwa etanol ekstrak etanol herba kancing ungu efektif memodulasi kekebalan spesifik dan non-spesifik sistem, dengan dosis 300 mg/kgBB diidentifikasi sebagai optimal untuk aktivasi makrofag.

Kesimpulan

Ekstrak etanol dari herba kancing ungu (*Borreria laevis Lamk.*) menunjukkan signifikansinya dapat meningkatkan aktivitas imunomodulator dengan meningkatkan fagositosis makrofag pada mencit jantan. Diantara dosis yang diujikan dosis 300 mg/kgBB paling efektif dalam meningkatkan aktivitas makrofag sehingga dapat mendukung potensi ekstrak etanol herba kancing ungu sebagai imunomodulator alami.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Mandala Waluya yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian di fasilitas kampus.

Daftar Pustaka

1. Haeria, Dhuha NS, Hasbi MI. Uji efek imunomodulator ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*. L) dengan parameter aktivitas dan kapasitas fagositosis sel

- makrofag pada mencit (*Mus musculus*) jantan. *Farm Galen*. 2017;4(1):1–7.
2. Kementerian Kesehatan RI. Buku pedoman manajemen penyakit tidak menular. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2019.
 3. Gerba CP. Environmentally transmitted pathogens. In: *Environmental Microbiology: Third Edition*. 2015.
 4. Hirayama D, Iida T, Nakase H. The phagocytic function of macrophage-enforcing innate immunity and tissue homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):92.
 5. Brindha P, Venkatalakshmi P, Vadivel V. Role of phytochemicals as immunomodulatory agents: A review. *Int J Green Pharm*. 2016;10(1).
 6. Gurjar VK, Pal D. Natural compounds extracted from medicinal plants and their immunomodulatory activities. In: *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*. 2021. p. 197–261.
 7. Subowo S. *Immunology*. Jakarta: CV Sagung Seto; 2009.
 8. Wahyuni W, Yusuf MI, Malik F, Lubis AF, Indalifiany A, Sahidin I. Efek imunomodulator ekstrak etanol spons *Melophlus sarasinorum* terhadap aktivitas fagositosis sel makrofag pada mencit jantan Balb/C. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy)*. 2019;5(2):147–57.
 9. Sinaga A. *Modul imunologi farmasi*. Sumatera Utara: STIKES Madistra; 2015.
 10. Hariyanti, Sunaryo H, Nurlaily S. Efek imunomodulator fraksi etanol dari ekstrak etanol 70% kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) berdasarkan peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit secara in vitro. *Pharmacy*. 2015;12(1):58–69.
 11. Conserva LM, Ferreira JC. *Borreria* and spermacoce species (Rubiaceae): a review of their ethnomedicinal properties, chemical constituents, and biological activities. *Pharmacogn Rev*. 2012;6(11):46–55.
 12. Sidarima J. *Skrining fitokimia dan penentuan kadar polifenol total, flavonoid total, saponin total dan tannin total herba kancing ungu (Borreria laevis Lamk.)*. Universitas Mandala Waluya; 2020.
 13. Angelina M, Amelia P, Irsyad M, Meilawati L, Hanafi M. Karakterisasi ekstrak etanol herba katumpangan air (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Biopropal Ind*. 2015;6(No.2):53–61.
 14. Istini I, Santoso B. Pengaruh penambahan serum dan lama waktu inkubasi lateks terhadap aktivitas fagositosis makrofag tikus sprague dawley (SD) dalam menunjang kegiatan penelitian. *Indones J Lab*. 2018;1(1):16–22.
 15. Rauf A, Haeria, Anas DD. Efek imunostimulan fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit jantan (*Mus musculus*). *JF FIK UINAM*. 2016;4(1).
 16. Marusin S, Chairul C. Efek ekstrak air dan alkohol pada siwak (*Salvadora persica* L.) terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. *Media Litbang Kesehat*. 2012;22(1):38–44.
 17. Ulfah M, Sari V, Cahyani N, Kinasih I. Pengaruh pemberian seduhan teh daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap aktivitas fagositosis sel makrofag dan proliferasi sel limfosit mencit galur Balb/C yang diinduksi vaksin hepatitis B. *Momentum*. 2017;13(2):63–71.
 18. Herawati I, Husin UA, Sudigdoadi S. Pengaruh ekstrak etanol propolis terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis pada kultur makrofag yang diinfeksi enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *Maj Kedokt Bandung*. 2015;47(2):102–8.
 19. Nurhasnawati H, Sukarmi S, Handayani F. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.). *J Ilm Manuntung*. 2017;3(1):91–5.
 20. Tania PO Ari. Mekanisme escape dan respon imun innate terhadap *Candida*

- albicans. *J Ilm Kedokt Wijaya Kusuma*. 2020;9(1):60.
21. Depkes RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta; 2000. 352–362 p.
 22. Intan PR, Winarno MW, Prihartini N. Efek ekstrak campuran kulit batang pulai (*Alstonia scholaris*) dan meniran (*Phyllanthus niruri*) pada mencit swiss webster yang diinfeksi plasmodium berghei. *J Kefarmasian Indones*. 2017;6(2):79–88.
 23. Baratawidjaja K. *Imunologi dasar*. Indonesia U, editor. Vol. 1, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Yogyakarta; 2012.
 24. Wahyuni, Malaka MH, Fristiohady A, Yusuf MI, Sahidin. Potensi imunomodulator ekstrak etanol buah kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Smith) terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit jantan galur Balb/C. *Pharmacon*. 2017;6(3):350–5.
 25. Rojihah R, Akhrani LA, Hasanah N. Perbedaan political awareness dilihat dari peran gender pemilih pemula. *J Mediapsi*. 2015;1(1):59–66.